



© 2015

Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas 14 (3): 190 - 205

ISSN 0717 7917

www.blacpma.usach.cl

Artículo Original | Original Article

Variabilidad de la composición química del aceite esencial de *Nectandra megapotamica* (Spreng.) Mez (Lauraceae)

[Variability of chemical composition of essential oil from *Nectandra megapotamica* (Spreng.) Mez (Lauraceae)]

Lúcio de Paula Amaral¹, Bianca Schindler², Nadia Helena Bianchini², Solon Jonas Longhi¹,
Carlos Alberto Araújo de Almeida³, Carlos Augusto Mallmann³ & Berta Maria Heinzmann^{1,4}

¹Programa de Pós-graduação em Engenharia Florestal,²Graduação em Engenharia Florestal,³Laboratório de Análises Micotoxicológicas,⁴Programa de Pós-graduação em Farmacologia,

CCR/UFSM, Av. Roraima, 1000 – CEP 97.105-900, Santa Maria, RS, Brasil

Contactos / Contacts: Berta Maria HEINZMANN - E-mail address: berta.heinzmann@gmail.com

Abstract: This work describes the chemical variability of the essential oils (EO) of *N. megapotamica* using multivariate analysis. Leaves of three individuals of a population in Santa Maria-RS were collected per season for a year, and classified into young and old. The EO were obtained by hydrodistillation and the chemical composition was determined by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC/MS). Cluster analysis (HCA) were performed for formation of chemical groups (CG), and principal component analysis was done (PCA) to determine which constituents influenced the formation of groups. Initially, two clusters were observed in the dendrogram, due to the concentration of α -pinene and bicyclogermacrene, major constituents of the EO. The second section showed five different CG, which is also the number of principal components with eigenvalues greater than 1. The occurrence of isomers of asarone was observed only in EO of two individuals (CG5), containing the main elements of differentiation.

Keywords: population variability, multivariate analysis, terpenoids, phenylpropanoids, *Nectandra megapotamica*

Resumen: Este trabajo describe la variabilidad química del aceite esencial (AE) de *N. megapotamica*, utilizando análisis multivariado. Se colectaron hojas de tres individuos en una población en Santa Maria, Brasil, en cada estación durante un año y se clasificaron en hojas jóvenes y viejas. Los AE se obtuvieron por hidrodestilación y la composición química fue determinada por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Se realizó un análisis de agrupamiento jerárquico para formación de grupos químicos (GQ) y análisis de componentes principales (ACP) para verificar cuáles constituyentes influenciaron la formación de grupos. Inicialmente se observaron dos agrupamientos en el dendrograma debido a concentraciones de α -pineno y biciclogermacreno, constituyentes mayoritarios. En el segundo corte se discriminaron cinco GQ, siendo este también el número de componentes principales con valores propios superiores a 1. Los isómeros de asarona se observaron solamente en el AE de dos individuos (GQ5), constituyendo los principales elementos de diferenciación.

Palabras clave: variabilidad poblacional, análisis multivariado, terpenoides, fenilpropanoides, *Nectandra megapotamica*.

Recibido | Received: 19 de Diciembre de 2013**Aceptado | Accepted:** 26 de Abril de 2014**Aceptado en versión corregida | Accepted in revised form:** February 12, 2015**Publicado en línea | Published online:** 30 de Mayo de 2015**Declaración de intereses | Declaration of interests:** A la CAPES, FIPE-UFSM, CNPq y FAPERGS/PRONEX por el apoyo financiero.**Este artículo puede ser citado como / This article must be cited as:** LP Amaral, B Schindler, NH Bianchini, SJ Longhi, CAA de Almeida, CA Mallmann, BM Heinzmann. 2015.**Variabilidad de la composición química del aceite esencial de *Nectandra megapotamica* (Spreng.) Mez (Lauraceae). *Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat* 14(3): 190 – 205.**

INTRODUCCIÓN

Los aceites esenciales (AE) constituyen un producto no maderero importante para la generación de renta, y pueden contribuir con la conservación de bosques por medio del manejo y uso sostenible. Varias especies arbóreas nativas de América del Sur poseen potencial para la producción de AE, destacándose representantes de las familias Asteraceae, Myrtaceae, Myristicaceae, Lauraceae, Lamiaceae, Piperaceae, Rutaceae y Verbenaceae, entre otras. La familia Lauraceae posee 50 géneros y entre 2500 a 3000 especies, con representación dominante en América y Asia, con informes también en Australia, Madagascar y de forma más dispersa en África Central (Rohwer & Kubitzki, 1993). Sólo en Brasil, esta familia está representada por 19 géneros y cerca de 390 especies (Ceolin et al., 2009), con los géneros *Aniba*, *Nectandra*, *Ocotea* y *Licaria* que tienen el mayor número de especies aromáticas (Marques, 2001). El género *Nectandra* Rol. ex Rottb posee 43 especies brasileiras, con una gran diversidad en los bosques Amazónico y Atlántico (Baitello et al., 2003).

Nectandra megapotamica (Spreng.) Mez, ilustra el comportamiento de gran parte de las especies de esta familia en lo que se refiere a su distribución en América del Sur, las cuales se conocen en Argentina, Paraguay, Uruguay, en las regiones sur, sureste y centro-oeste de Brasil (Lorenzi, 2002; Baitello et al., 2003; Grela y Brussa, 2003; Carvalho, 2006; Zanon et al., 2009). Esta especie se destaca por ser una de las más frecuentes y características de los bosques de la ladera meridional de la Serra Geral en Rio Grande do Sul (Machado & Longhi, 1993; Farias et al., 1994). Su nombre genérico, *Nectandra*, proviene del griego néctar (néctar) y anér (hombre) y el epíteto específico *megapotamica* se deriva del griego méga (grande) y potamós (río), en referencia al estado Rio Grande do Sul (Pedralli, 1986). En tupí-guaraní es conocida como *caá-ema* que significa “árbol de olor” (Longhi, 1995).

En la medicina popular, las hojas de *N. megapotamica* se utilizan en el tratamiento de tos, gripe y como calmante (Alves et al., 2008). La cáscara de esta especie se usa como analgésica y antiirreumática (Silva Filho et al., 2004) y en abscesos (Alves et al., 2008). Las raíces poseen propiedades analgésicas y antiinflamatorias (Mello et al., 2005). Para algunas preparaciones a base de esta especie, se comprobaron diferentes actividades biológicas, como

inhibición de las actividades hemolíticas, coagulantes y proteolíticas del veneno de *Bothrops diporus* (Torres et al., 2014), efecto anestésico en *Centropomus parallelus* (Tondolo et al., 2013), actividades antifúngica y antimicrobiana (Brito, 2009), antiinflamatoria y antitumoral (Apel et al., 2006).

La especie presenta una serie de metabolitos secundarios bioactivos descritos en la literatura, como neolignanos hexahidrobenzofuránicos y tetrahidrofuránicos obtenidos de extracto etanólico de hojas, para las cuales fue detectada una acción antagónica del FAP (factor de agregación plaquetaria) y presentaron actividad contra *Trypanosma cruzi* (de Luca et al., 2004). Algunos lignanos tetrahidrofuránicos demostraron actividad leishmanicida, tales como machilina G y veraguensina, y actividad antimalárica contra *Plasmodium falciparum*, a ejemplo de la calopeptina. Adicionalmente, estos lignanos no presentaron citotoxicidad para células de mamíferos (da Silva Filho et al., 2008). Hay relatos también de la ocurrencia de alcaloides para *Nectandra saligna* Nees, sinonimia botánica de *N. megapotamica* (Lorenzi, 2002), tales como la ocoteína (Baralle et al., 1972). La presencia de fenilpropanoides en la especie fue descrita por Garcez et al. (2009), que obtuvieron cuatro constituyentes en extracto etanólico de las cáscaras del tronco, elemicina, isoelomicina, (\pm)-eritro-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-1,2-propanodiol e (\pm)-treo-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-1,2-propanodiol, y relataron actividad antifúngica *in vitro* de los mismos. En la naturaleza *N. megapotamica* desempeña importantes funciones ecológicas, entre ellas se destaca el proveer de alimento a animales frugívoros como aves (Krügel et al., 2006).

Estudios sobre la composición química de los AE de diferentes especies vegetales mencionan una gran variabilidad ocasionada por factores endógenos y exógenos (Barra, 2009). Datos con estas características se pueden analizar a través del análisis multivariado (Mardia et al., 1994; Telascrea et al., 2007; Subki et al., 2013). El objetivo de este trabajo fue estudiar la variabilidad de la composición química del AE de hojas de *N. megapotamica* de acuerdo al siguiente diseño experimental: dos fases de desarrollo, clasificadas como jóvenes y viejas, recolectadas en diferentes individuos (tres por estación), en un período de un año (cuatro estaciones), en una población de un fragmento

forestal en Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil, por medio de análisis multivariado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de recolección y material vegetal

Se recolectaron hojas de nueve árboles adultos de *N. megapotamica* en el Bosque Estacional Deciduo (*Floresta Estacional Decidua* – FED) (IBGE, 2012), en la base del Morro do Elefante, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. Con el objetivo de verificar si había variabilidad estacional en la composición química del AE, las hojas de estos árboles fueron recolectadas en cuatro estaciones del año (primavera, verano, otoño y invierno), con un total de 12 recolectas realizadas. Para conformar el total de recolectas los árboles 1, 3 y 4 se utilizaron dos veces en diferentes estaciones (Tablas 1 y 2). Los árboles fueron localizados utilizando un GPS de navegación, entre 29° 40' 43" y 29° 40' 51" latitud sur y entre 53° 43' 08" y 53° 43' 16" longitud oeste, con altitud entre 114 y 172 m. El clima es del tipo *Cfa*, subtropical húmedo (EMBRAPA, 2011), con temperatura media anual entre 17,9 y 19,2° C, precipitación distribuida regularmente durante el año, alcanzando 1691 mm. En la localidad predominan asociaciones de suelos de la unidad *Charrua*: *Neossolos Regolíticos Eutróficos lépticos* con suelos de la unidad *Ciríaco* degradada, *Cambissolos Háplicos Eutróficos* típicos y *Luvissolos Háplicos* típicos (Streck et al., 2008).

La especie fue identificada por el Prof. Dr. Solon Jonas Longhi, y un ejemplar o exsiccata fue depositada (SMDDB número 13107) en el Herbario del Departamento de Biología de la Universidade Federal de Santa Maria. Las recolectas fueron individuales y la extracción fue en triplicado para cada uno de los tres árboles muestreados durante las cuatro estaciones evaluadas, realizadas entre las 9 y 11 horas de la mañana, en el período de noviembre/2010 a septiembre/2011. Las hojas fueron clasificadas en hojas jóvenes (HJ) y viejas (HV) de acuerdo con su posición e inserción en las ramas, nudos y separación entre nudos, color, tamaño, textura y deposición de partículas en la superficie adaxial, siendo descartadas las que presentaron necrosis, color amarillento, ataque de insectos, señales de deficiencia nutricional, entre otros problemas.

Obtención del AE y análisis de la composición química

Los AE se obtuvieron por hidrodestilación durante tres horas, en triplicado, de acuerdo con la metodología descrita por Sartor (2009), en un sistema tipo Clevenger, con manta de calentamiento y balones de vidrio de 5000 mL, con 500 g de hojas frescas fraccionadas y tres litros de agua destilada. Los AE se almacenaron en frascos de vidrio ámbar, a -4° C en ausencia de luz.

La composición química se obtuvo por cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas (CG/EM), en cromatógrafo Agilent 6890N y detector de masas 5973. Previo a la inyección de las muestras, los AE se diluyeron en n-hexano para cromatografía gaseosa SupraSolv® - Merck (1:1000). Se utilizó la relación de división (Split) de 1:100 y como método de ionización el de impacto electrónico a 70 eV. Los parámetros de los análisis fueron: columna capilar de sílice fundida HP-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm); volumen de inyección 1,0 µL; gas portador Helio, a 1,3 mL min⁻¹; temperaturas del inyector y detector, 250° y 320° C, respectivamente, con programación desde 40 hasta 320° C, a una tasa de calentamiento de 4° C min⁻¹, y tiempo de espera de 4 minutos. La temperatura de la línea de transferencia fue de 250° C. Para la identificación de los componentes se consideraron dos parámetros: las diez primeras sustancias sugeridas por el banco de datos con modelo de fragmentación del espectro de masas semejante al del componente en análisis (NIST Mass Spectral Search Program, versión 2.0), y también por comparación de los Índices de Kovats (IK) con el banco de datos del equipo (NIST, 2002) y datos de la literatura (Adams, 2001). Para el análisis cuantitativo, la composición porcentual de las muestras se calculó por la integración del área de las señales de los cromatogramas obtenidos.

Análisis multivariado

Para la definición de los grupos químicos con los datos de la composición de los AE, se utilizaron técnicas multivariadas: análisis de agrupamiento jerárquico (AAJ), con la distancia euclidiana como medida de similitud, con dendrograma horizontal obtenido por el método Ward, y análisis de componentes principales (ACP), para verificar cuáles variables (constituyentes) influenciaron la formación de los grupos (Mardia et al., 1994; Ferreira, 2008; Lattin et al., 2011). Para efecto de análisis, cada

muestra de AE fue considerada como un “caso” y cada constituyente como una “variable descriptora”. Los análisis fueron realizados utilizando el programa Statistica 7[®].

RESULTADOS

En las doce muestras analizadas en el AE de las hojas jóvenes (HJ) se observaron 67 constituyentes y en las hojas viejas (HV) su número alcanzó a 79 componentes (Tablas N° 1 y 2).

Tabla N° 1
Composición química de los AE de HJ de *Nectandra megapotamica* colectadas en Santa Maria-RS

Constituyentes	Valores (%)															M
	Estaciones			--- Primavera ---			---- Verano ----			---- Otoño ----			--- Invierno ---			
	Recolectas			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
	-- IK Exp. --	IK Lit.		Ar1	Ar2	Ar3	Ar4	Ar5	Ar3	Ar6	Ar7	Ar8	Ar9	Ar1	Ar4	
α -Pineno ^{HM}	929	935	932 ^N	33,0	44,2	22,5	20,9	31,1	33,0	34,7	18,6	11,1	14,5	20,5	17,4	25,1
Canfeno ^{HM}	942	946	943 ^N	1,1	1,5		0,2	0,4	0,4	0,3	0,2	0,4	0,5	0,7	0,6	0,6
NI1	960						0,1									0,1
β -Pineno ^{HM}	971	975	974 ^N	18,3	22,1	13,0	14,6	19,6	12,1	22,3	13,4	5,9	7,3	10,0	13,8	14,4
β -Mirceno ^{HM}	987	992	991 ^N	5,9	5,9	1,7	0,4	0,7	1,6	0,4	0,9	1,4	1,8	2,7	0,9	2,0
Limoneno ^{HM}	1024	1028	1022 ^N	8,5	9,8	3,8	3,1	3,7	3,3	5,3	5,2	2,6	3,0	4,0	4,8	4,8
Eucalipto ^{MO}	1025	1029	1029 ^N	2,7	1,9	0,5	0,3	0,6	0,3	0,1	0,7	0,3	0,4	0,7	0,5	0,7
β -E-Ocimen ^{HM}	1036	1039	1040 ^N	1,0			0,2	0,2			0,4	0,2	0,3	0,5	0,5	0,4
β -Z-Ocimen ^{HM}	1045	1050	1047 ^N	6,4	0,3		1,1	1,0		0,3	2,6	1,5	2,1	3,0	2,6	2,1
τ -Terpineno ^{HM}	1057		1058 ^N		0,2											0,2
Terpinoleno ^{HM}	1084	1087	1085 ^N	0,6	0,6		0,1	0,3	0,1	0,2	0,4	0,2	0,2	0,3	0,4	0,3
β -Linalol ^{MO}	1098	1100	1099 ^N		3,1		0,1	0,3	0,8						0,3	0,9
Terpineol ^{HM}	1175	1177	1176 ^N		0,3									0,1	0,1	0,2
α -Terpineol ^{MO}	1188	1191	1190 ^N		0,2										0,1	0,2
NI2	1328				0,1											0,1
δ -Elemeno ^{HS}	1335	1338	1337 ^N	0,4	0,2	2,4	0,3	0,7	0,4	0,3	0,9	1,0	0,8	0,5	0,9	0,7
α -Cubebeno ^{HS}	1349	1350	1345 ^N								0,2	0,1	0,1	0,1		0,1
Ciclosativeno ^{HS}	1364	1365	1371 ^A								0,1			0,1		0,1
Copaeno ^{HS}	1374	1377	1376 ^N	1,5			0,1	0,7		1,6	2,3	2,1	2,4	3,2	0,3	1,6
β -Bourboneno ^{HS}	1384	1385	1384 ^N								0,2	0,4	0,3	0,1	0,2	0,3
β -Cubebeno ^{HS}	1388	1392	1391 ^N	0,3				0,3		0,3	0,8	1,0	1,0	0,8		0,7
β -Elemeno ^{HS}	1390	1393	1392 ^N	0,5			0,3	0,4	0,2	0,2	0,6	0,4	0,4	0,5	0,9	0,4
NI3	1410						0,1									0,1
Metil eugenol ^F	1404		1404 ^A												0,3	0,3
α -Gurjuneno ^{HS}	1408		1409 ^N												0,3	0,3

Cariofileno ^{SO}	1417	1421	1420 ^N	2,1	0,7	1,6	1,3	2,4	1,0	2,0	3,4	2,1	1,8	5,2	3,0	2,2
β-Copaeno ^{HS}	1428	1430	1432 ^A								0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
τ-Elemeneno ^{HS}	1433	1439	1434 ^N								0,2	0,3			0,2	0,2
Alo-Aromadendreno ^{HS}	1436	1440	1434 ^N					0,2		0,1	0,3		0,3	0,3	0,3	0,2
α-Cariofileno ^{SO}	1451	1456	1454 ^N	1,1			0,2	0,4		2,1	1,4	1,6	1,6	2,9	0,6	1,3
α-Amorfeneno ^{HS}	1478		1475 ^N					0,1								0,1
β-Farneseno ^{HS}	1459		1459 ^N			2,5										2,5
Aromadendreno ^{HS}	1459	1463	1463 ^N	0,2		3,3	0,2				0,2	0,2	0,2	0,7	0,5	0,7
Germacreno D ^{HS}	1479	1484	1483 ^N	4,9	2,9	11,4	12,3	10,0	9,0	5,6	12,3	10,3	8,6	10,8	11,0	9,1
α-Selineno ^{HS}	1488	1489	1488 ^N	1,1										2,2		1,6
Biciclogermacreno ^{HS}	1495	1501	1500 ^A	7,9	6,0	32,3	38,5	23,8	36,5	20,9	26,3	33,3	25,8	20,2	23,3	24,6
β-Bisaboleno ^{HS}	1504	1512	1506 ^A			3,4		0,1			0,5	0,4	0,4		0,5	0,9
NI4	1507	1507					0,2							0,6		0,4
NI5	1516							0,2								0,2
τ-Cadineno ^{HS}	1512		1513 ^N												0,3	0,3
δ-Amorfeneno ^{HS}	1515	1515	1512 ^A								0,3	0,3				0,3
Cubebol ^{HS}	1515	1516	1515 ^A										0,3	0,3		0,3
δ-Cadineno ^{HS}	1521	1528	1526 ^N	1,7			0,3	0,5	0,2	2,7	1,9	2,1	2,1	4,1	1,0	1,6
E-Cadina-1,4-dieno ^{HS}	1533	1534	1535 ^A									0,1	0,1	0,1		0,1
E-γ-Bisaboleno ^{HS}	1539		1535 ^A			1,7										1,7
Silfiperfol-5-en-3-ol A ^{SO}	1558	1560	1560 ^A	0,2							0,7			0,4		0,5
Elemicina ^F	1559		1558 ^N												7,5	7,5
E-Nerolidol ^{SO}	1564	1573	1563 ^A	0,5			0,5	0,6			0,4	2,9	3,0	1,3	2,3	1,4
E-Isoelemicina ^{SO}	1566	1567	1570 ^A				3,7	0,1								1,9
Longicanfenoleno ^{SO}	1567	1568	1564 ^A								0,1	0,1			0,2	0,1
Espatuleno ^{SO}	1576	1580	1579 ^N						0,4	0,2	1,5	0,9	1,1	0,7	0,8	0,8
Isovalerato de nerilo ^{SO}	1578		1584 ^A				0,1									0,1
NI6	1589						0,2									0,2
Globulol ^{SO}	1582	1597	1585 ^N	0,2			0,2	0,3	0,3	0,2	0,8	0,9	0,7	0,6	0,9	0,5
Viridiflorol ^{SO}	1590	1605	1595 ^N	0,2			0,2	0,4	0,2	0,2	0,6	0,7	0,5	0,3	0,6	0,4
NI7 #	1602	1602										0,3	0,7			0,5
NI8	1602	1605								0,2	0,3	0,3		0,3	0,5	0,3
NI9	1612	1615				0,1	0,2							0,1		0,1
Z-Asarona ^F	1624	1624	1617 ^A									1,0	0,9			1,0
1-Epi-Cubenol ^{SO}	1630	1631	1629 ^A								0,2	0,2	0,1	0,2		0,2
τ-Muurolo ^{SO}	1644	1651	1643 ^N				0,1	0,2			0,4	0,3	0,3	0,3		0,3
τ-Cadinol ^{SO}	1642		1642 ^N												0,5	0,5
δ-Cadinol ^{SO}	1648		1646 ^N								0,1					0,1
α-Cadinol ^{SO}	1655	1663	1657 ^N				0,2	0,2	0,2		0,5			0,5	1,0	0,4

NI10 @	1657	1657									9,1	11,9		10,5		
<i>E</i> -Asarona ^F	1684	1684	1676 ^A								3,1	3,1		3,1		
NI11	1691	1693									1,0	1,1	0,2	0,8		
Total identificado				100	99,9	100	99,4	99,4	100	99,8	99,7	89,3	86,3	99,0	99,3	97,7
Número de Picos				24	17	12	29	31	18	22	38	39	37	39	39	
Hidrocarburos Monoterpénicos (HM)				74,7	84,6	40,9	40,5	57,0	50,6	63,4	41,8	23,3	29,8	41,6	40,9	49,1
Monoterpenos Oxigenados (MO)				2,7	5,4	0,5	0,4	0,9	1,1	0,1	0,7	0,3	0,4	0,8	1,0	1,2
Hidrocarburos Sesquiterpénicos (HS)				18,4	9,1	57,0	52,1	36,8	46,3	31,7	47,1	52,1	42,9	44,3	39,8	39,8
Sesquiterpenos Oxigenados (SO)				4,2	0,7	1,6	2,8	4,7	2,1	4,6	10,1	9,6	9,2	12,3	9,8	6,0
Fenilpropanoides (F)				0,0	0,0	0,0	3,7	0,1	0,0	0,0	0,0	13,4	16,7	0,0	7,8	3,5
No Identificados (NI)				0,0	0,1	0,0	0,6	0,4	0,0	0,2	0,3	1,3	1,1	1,0	0,7	0,5
Total				100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	

Leyenda: IK Exp.*- Amplitud del Índice de Kovats experimental para 12 observaciones; IK Lit. - Índice de Kovats de la literatura; Ar - árboles recolectadas; M - media; # - Fenilpropanoide con perfil de fragmentación semejante al de *Z*-asarona; @ - Fenilpropanoide con perfil de fragmentación semejante al de *E*-asarona; N - NIST, 2002; A - Adams, 2001.

El AE de hojas en las dos fases de desarrollo presentó como constituyente mayoritario el α -pineno, con porcentajes medios de 25,1 y 28,0% para HJ y HV, respectivamente, seguido de biciclogermacreno (24,6 y 22,2%), β -pineno (14,3 y 16,2%) y de los derivados de la asarona, codificados como NI10 @ y NI15 @ (10,5 y 10,7%). También se encontró germacreno D, elemicina y limoneno en cantidades significativas tanto en HJ como en HV, con el primero como el más abundante en el AE de HJ, mientras que en las HV la segunda predominó.

De los siete constituyentes citados anteriormente, sólo los derivados de la asarona codificados como NI10 @, NI15 @ y elemicina estaban ausentes en la mayoría de las muestras analizadas, excepto en las muestras de las recolectas 9 y 10, donde se detectaron los dos primeros constituyentes, y en la recolecta 12 para la tercera, obtenidas a finales de otoño y durante el invierno. Estos componentes son derivados de estructura fenilpropanoide, al contrario de los demás constituyentes mayoritarios, que poseen una estructura terpenoide.

Tabla N° 2
Composición química de los AE de HV de *Nectandra megapotamica* colectadas en Santa Maria-RS

Constituyentes	Valores (%)														M	
	Estaciones		--- Primavera ---			---- Verano ----			---- Otoño ----			--- Invierno ---				
	Recolectas		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
	-- IK Exp. --	IK Lit.	Ar1	Ar2	Ar3	Ar4	Ar5	Ar3	Ar6	Ar7	Ar8	Ar9	Ar1	Ar4		
α -Pineno ^{HM}	929	935	932 ^N	37,8	42,4	30,4	29,3	36,2	39,1	41,6	21,5	11,5	15,1	15,6	15,8	28,0
Canfeno ^{HM}	942	946	943 ^N	1,2	1,6		0,4	0,3	0,4	0,3	0,3	0,4	0,5	0,6	0,5	0,6
NI1	960						0,1									0,1
β -Pineno ^{HM}	971	975	974 ^N	20,3	23,0	13,0	20,6	24,9	15,2	26,0	15,4	6,5	7,8	9,4	13,0	16,3
β -Mirceno ^{HM}	987	992	991 ^N	6,1	5,4	0,7	0,8	0,5	1,8	0,5	1,0	1,5	1,8	2,7	0,8	2,0
α -Terpineno ^{HM}	1015		1012 ^N		0,1											0,1
Limoneno ^{HM}	1024	1028	1022 ^N	9,2	10,0	2,4	4,8	3,8	3,8	5,3	5,7	2,9	3,1	4,4	4,6	5,0
Eucaliptol ^{MO}	1025	1029	1029 ^N	1,9	0,8	0,2	0,7	0,3	0,1		0,7	0,3	0,3	0,5	0,4	0,6

β -E-Ocimeno ^{HM}	1036	1045	1040 ^N	1,3			0,3			0,3	0,6	1,0	0,4	0,6	0,4	0,6
β -Z-Ocimeno ^{HM}	1047	1050	1047 ^N	7,9	0,4	0,4	1,9	0,7			3,5	1,7	2,2	3,8	2,3	2,5
τ -Terpineno ^{HM}	1057	1058	1058 ^N		0,2						0,1					0,2
Terpinoleno ^{HM}	1084	1087	1085 ^N	0,5	0,6		0,3	0,1		0,1	0,4	0,2	0,2	0,3	0,4	0,3
β -Linalol ^{MO}	1098	1100	1099 ^N		2,1			0,1	0,4		0,1	0,2			0,2	0,5
Terpineol ^{MO}	1174	1177	1176 ^N		0,3						0,1				0,1	0,2
Z-3-Butirato de hexenila ^{MO}	1188		1184 ^N		0,2											0,2
α -Terpineol ^{MO}	1190		1190 ^N		0,2											0,2
Bergamol ^{MO}	1258		1257 ^N		0,2											0,2
δ -Elemeno ^{HS}	1336	1339	1337 ^N	0,2	0,2	0,4	1,0	0,2	0,2		0,7	0,7	0,8	0,6	0,9	0,5
α -Cubebeno ^{HS}	1349	1350	1345 ^N								0,2			0,2		0,2
Eugenol ^F	1359		1356 ^N									3,3				3,3
Ciclosativeno ^{HS}	1364	1365	1371 ^A								0,1			0,1		0,1
Copaeno ^{HS}	1374	1377	1376 ^N	0,8			0,2	0,3		1,1	1,7	1,9	2,1	3,2	0,3	1,3
β -Bourboneno ^{HS}	1384	1385	1384 ^N								0,4	0,8	0,5	0,3	0,2	0,4
β -Cubebeno ^{HS}	1388	1392	1391 ^N	0,2				0,2		0,4	0,6	1,0	1,1	0,9		0,6
β -Elemeno ^{HS}	1391	1393	1392 ^N	0,3		0,2	0,5		0,1		0,4	0,4	0,3	0,6	0,9	0,4
Metil eugenol ^F	1404		1404 ^A												0,3	0,3
NI2	1405						0,1									0,1
α -Gurjuneno ^{SH}	1409		1409 ^N												0,3	0,3
NI3	1410						0,1									0,1
Cariofileno ^{SO}	1417	1421	1420 ^N	1,4	0,8	0,6	1,8	1,2	0,8	1,3	3,0	3,0	1,7	5,3	3,0	2,0
β -Copaeno ^{HS}	1428	1430	1432 ^A								0,2	0,3	0,1	0,2	0,2	0,2
τ -Elemeno ^{HS}	1433		1434 ^N												0,1	0,1
NI4	1434										0,1					0,1
Alo-Aromadendreno ^{HS}	1438	1440	1434 ^N				0,2				0,4	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3
NI5	1445											0,1				0,1
α -Cariofileno ^{SO}	1451	1456	1454 ^N	0,7			0,3	0,2		1,4	1,0	1,4	1,5	3,0	0,6	1,1
β -Farneseno ^{HS}	1458		1459 ^N			1,0										1,0
Aromadendreno ^{SH}	1459	1463	1463 ^N	0,2		1,1					0,2	0,2		0,8	0,5	0,5
NI6	1461						0,2									0,2
Germacreno D ^{HS}	1479	1484	1483 ^N	2,6	2,9	5,1	7,6	5,7	5,8	3,3	8,8	11,4	7,2	10,9	11,3	6,9
α -Selineno ^{HS}	1488	1488	1488 ^N	0,7										2,5		1,6
Biciclogermacreno ^{HS}	1495	1502	1500 ^A	5,2	7,4	41,3	21,4	23,9	31,2	15,8	24,5	26,0	24,9	20,8	25,1	22,3
NI7	1501	1504								0,1					0,4	0,3
Valenceno ^{HS}	1505		1503 ^N								0,4					0,4
β -Bisaboleno ^{HS}	1506	1511	1510 ^N			1,3		0,1				0,5	0,3	0,6		0,6
NI8	1511									0,1						0,1
τ -Cadineno ^{HS}	1513		1513 ^N												0,3	0,3
δ -Amorfeno ^{HS}	1515		1512 ^A								0,3					0,3
γ -Cadineno ^{HS}	1515	1516	1514 ^A										0,3	0,5		0,4
Cubebol ^{SO}	1516		1515 ^A									0,4				0,4

δ -Cadineno ^{HS}	1521	1528	1526 ^N	0,8	0,1	0,3	0,4	0,2	0,1	1,6	1,4	1,7	1,7	4,1	0,9	1,1
<i>E</i> - γ -Bisaboleno ^{HS}	1537		1535 ^A			0,5										0,5
NI9	1549					0,1										0,1
Silfiperfol-5-en-3-ol A ^{SO}	1558	1561	1560 ^A	0,1							0,6			0,4		0,4
Elemicina ^F	1559		1558 ^A												8,6	8,6
<i>E</i> -Nerolidol ^{SO}	1564	1566	1563 ^A	0,2							0,4	3,2	2,9	1,4	2,2	1,7
<i>E</i> -Isoelemicina ^F	1566		1570 ^A				4,2									4,2
Longicanfenoleno ^{SO}	1568		1564 ^A								0,1					0,1
Nerolidol ^{SO}	1573	1573	1570 ^N			0,4	1,1	0,3								0,6
Espatuleno ^{SO}	1576	1581	1579 ^N		0,5				0,5	0,6	2,2	2,1	1,8	1,7	1,2	1,3
NI10	1581	1590		0,3		0,6	0,4	0,3								0,4
Oxido de cariofileno ^{SO}	1582	1587	1583 ^N	0,2					0,2	0,2		1,1		1,1		0,6
Globulol ^{SO}	1585	1596	1587 ^N		0,3		0,5	0,2			0,9		0,8		1,0	0,6
Viridiflorol ^{SO}	1593	1605	1595 ^A		0,1	0,2	0,3	0,1		0,2	0,6	0,4	0,4	0,3	0,5	0,3
NI11 #	1602	1602										0,7	0,9			0,8
NI12	1603	1606									0,3	0,3		0,4	0,5	0,4
NI13	1612	1613									0,1		0,2	0,3		0,2
NI14	1616					0,2										0,2
Z-Asarona ^F	1624	1624	1617 ^A									1,2	1,2			1,2
1-Epi-Cubeno ^{SO}	1630	1631	1629 ^A								0,2			0,3		0,2
τ -Muurolo ^{SO}	1640	1652	1643 ^N		0,1		0,2	0,1	0,1		0,2			0,4		0,2
τ -Cadinol ^{SO}	1642		1642 ^N												0,5	0,5
δ -Cadinol ^{SO}	1644		1646 ^N								0,2					0,2
α -Cadinol ^{SO}	1655	1664	1657 ^N		0,2	0,1	0,2	0,2	0,2		0,4			0,7	1,0	0,4
NI15 @	1657	1658										8,3	13,1			10,7
NI16	1671	1672												0,2	0,3	0,2
<i>E</i> -Asarona ^F	1684	1684	1676 ^A									2,4	3,6			3,0
NI17	1689													0,1		0,1
NI18	1691	1694										1,0	1,3	0,1	0,4	0,7
Total Identificado				99,7	99,4	100	98,8	99,7	100	99,8	99,4	89,7	84,5	98,9	98,4	97,4
Número de Picos				24	25	21	30	24	17	19	43	37	33	40	38	
Hidrocarburos Monoterpénicos (HM)				84,3	83,7	46,7	58,5	66,6	60,2	74,1	48,5	25,7	31,1	37,4	37,8	54,5
Monoterpenos Oxigenados (MO)				1,9	3,7	0,2	0,7	0,4	0,6	0,0	0,9	0,5	0,3	0,5	0,7	0,9
Hidrocarburos Sesquiterpénicos (HS)				10,9	10,6	51,2	31,2	30,5	37,5	22,1	40,2	45,1	39,5	46,4	41,1	33,9
Sesquiterpenos Oxigenados (SO)				2,6	1,4	1,8	4,2	2,2	1,8	3,6	9,9	11,6	9,0	14,6	9,9	6,1
Fenilpropanoides (F)				0,0	0,0	0,0	4,2	0,0	0,0	0,0	0,0	6,9	4,8	0,0	8,9	2,1
No Identificados (NI)				0,3	0,6	0,1	0,9	0,0	0,0	0,2	0,6	10,3	15,5	1,1	1,6	14,8
Total				100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	

Legenda: IK Exp.*- Amplitud del Índice de Kovats experimental para 12 observaciones; IK Lit. - Índice de Kovats de la literatura; Ar - árboles recolectadas; M - media; # - Fenilpropanoide con perfil de fragmentación semejante al de Z-asarona; @ - Fenilpropanoide con perfil de fragmentación semejante al de E-asarona; N - NIST, 2002; A - ADAMS, 2001.

Otro aspecto que llama la atención es el hecho que ocurrió una alternancia entre el monoterpenoide α -pineno (10 carbonos) y el sesquiterpeno biciclogermacreno (15 carbonos), como constituyente principal en el AE de HJ y HV, entre las 12 recolectas realizadas con los nueve árboles muestreados. En las recolectas 1, 2, 5 y 7 el α -pineno fue el constituyente mayoritario, tanto en HJ como en HV; ya en las recolectas 3, 4, 8, 9, 10 y 12 el biciclogermacreno fue detectado como componente mayoritario, tanto en HJ como en HV. Por lo tanto, ocurrió una alternancia en el constituyente mayoritario a lo largo de las estaciones del año (primavera, verano, otoño e invierno). Hubo predominio de α -pineno en la primavera y en el verano, con medias de 30,8% y 35,9% respectivamente para HJ y HV, mientras que el biciclogermacreno prevaleció en el otoño y en el invierno, con media de 25,0% para el aceite esencial obtenido de hojas en ambas fases de desarrollo.

Los análisis AAJ para la composición química del AE de HJ y HV presentan inicialmente la formación de dos agrupamientos, con cortes en los dendrogramas en las distancias 36 y 46 (primer corte, Figuras N° 1 A y B, respectivamente). En estas distancias las muestras se agruparon de acuerdo con sus constituyentes mayoritarios, α -pineno o biciclogermacreno. Al realizar un segundo corte en las distancias 16 y 18 de los respectivos dendrogramas se observó la formación de cinco grupos distintos para el AE de las hojas en ambas fases de desarrollo.

Para los AE de las HJ, la matriz de distancia euclidiana entre los casos, generada por el AAJ, indicó las mayores distancias entre las muestras HJ2 y HJ9 (48,6), HJ2 y HJ4 (43,0) y entre las muestras HJ2 y HJ10 (42,2), por lo cual estas son las composiciones más diferenciadas. Las distancias menores se observaron entre las muestras HJ5 y HJ7 (7,8), HJ8 y HJ11/HJ12 (8,9), HJ9 y HJ10 (9,1) y entre HJ3 y HJ4 (9,9), por lo cual estas son las composiciones más similares. En el caso de las muestras de AE de las HV, se observaron las mayores distancias entre las muestras HV2 y HV9 (42,8), HV1 y HV10 (40,0) y entre HV2 y HV10 (39,7). Las menores distancias se obtuvieron entre las muestras HV9 y HV10 (8,6), HV4 y HV5 (9,9) y entre HV1 y HV2 (10,1).

Los grupos químicos (GQ) más próximos o de composición más semejante fueron el GQ4 y

GQ5, y los grupos más distantes fueron el GQ5 y GQ1. La matriz de agrupamiento o de fusión generada por el AAJ por el método Ward mostró distancias de 87,06 entre las muestras de los GQ1 y GQ5 y distancia de 24,52 entre las muestras de los GQ4 y GQ5 para los AE de las HV. En el caso de los AE de HJ la distancia entre el GQ4 y el GQ5 fue 28,54 y 76,06 entre el GQ1 y el GQ5. Esto significa que las muestras tienen diferencias en la composición química debido a la variabilidad en los valores porcentuales de constituyentes comunes a todas las muestras (por ejemplo, α -pineno y biciclogermacreno, entre otros), y debido a la ocurrencia de algunos constituyentes en muestras específicas (por ejemplo, *E*-asarona y *Z*-asarona, entre otros), la cuales influyeron en la agrupación observada en los dendrogramas para muestras de AE de HJ y HV de *N. megapotamica*.

Las muestras de otoño e invierno fueron agrupadas en el cluster II (primer corte) para los AE de las HV, con excepción de la muestra 7 que fue agrupada en el cluster I, junto con las muestras de la primavera y el verano. El agrupamiento resultante del análisis de las muestras de HJ no diferenció entre las estaciones del año.

Las muestras 1, 2, 5 y 7 de las HJ (cluster I) presentaron α -pineno como constituyente mayoritario, con media de 35,7% así como 14,7% para biciclogermacreno. Sin embargo, las muestras 3, 4, 6, 8, 10 y 12 (cluster II) presentaron el biciclogermacreno como principal constituyente, con media de 30,9%, seguido por el α -pineno con media de 19,7%. La muestra 11 es una excepción, ya que teniendo el α -pineno como constituyente mayoritario (20,5%) y menor tenor de biciclogermacreno (20,2%) fue agrupada en el cluster II, debido a otras características de la composición química, como el contenido total de sesquiterpenoides, y de monoterpenoides, que este último fue menor en las muestras del cluster I. Para las HV, las muestras 1, 2, 4, 5, 6 y 7 (cluster I) presentaron α -pineno como principal constituyente con media de 37,7%, seguido por biciclogermacreno, con media de 17,5%. La muestra 3 fue una excepción ya que a pesar de tener el biciclogermacreno como constituyente mayoritario (41,3%) y menor tenor de α -pineno (30,4%), fue agrupada en el cluster I. Sin embargo, las muestras 8, 9, 10, 11 y 12 (cluster II) presentaron el biciclogermacreno como constituyente principal con media de 24,2% y 15,9% de α -pineno.

Las muestras de AE de las hojas de las colectas 9 y 10 en ambos estadios de desarrollo resultaron más distantes en relación a las muestras restantes dispuestas en el dendrograma (Figura N°1, A y B), indicando que estos aceites tienen una composición química diferenciada. Estos AE presentaron los menores tenores de α y β -pineno y limoneno, siendo también las únicas muestras que presentaron los derivados de estructura fenilpropanoide *E*-asarona, *Z*-asarona, bien como los compuestos de estructura relacionada, codificados como NI7 # y NI11 # en las HJ, totalizando 15,0%. El mismo comportamiento puede ser observado en las HV, cuyos AE también presentaron los constituyentes de estructura semejante a la asarona, codificados como NI10 @ y NI15 @, con 15,6% (Tablas 1 y 2), siendo la presencia de estas sustancias la posible causa para la formación de este grupo químico diferenciado, denominado GQ5, destacado también por el ACP (Análisis de Componentes Principales). En este análisis, los gráficos de dispersión de los casos y de las variables descriptoras presentaron una proyección espacial semejante entre estos constituyentes de estructura fenilpropanoide y las muestras 9 y 10, en los AE de hojas en ambas fases evaluadas (Figura N° 2 A, B, C y D respectivamente).

El ACP generó 10 componentes principales (CP) con valores propios mayores que 1, cinco de los cuales contienen 76,76 y 75,60% de la variancia total acumulada en los datos, para los AE de HJ y HV, respectivamente. Los resultados de este análisis son coherentes con los obtenidos en el AAJ, ya que el número de las componentes principales representativas en el ACP es similar al número de grupos formados en el AAJ, cinco agrupamientos en este caso.

Los constituyentes NI7 #, NI11 #, NI10 @ y NI15 @ no pudieron ser identificados con ayuda del banco de datos del equipo. Sin embargo, estos constituyentes presentaron espectros de masas semejantes a los isómeros *Z* y *E* de la asarona e índices de Kovats diferentes, lo que también fue observado al comparar los modelos de fragmentación de los espectros de masas con los dos isómeros en el portal de la base de datos de referencia del National Institute of Standards and Technology (NIST). Estas moléculas son los principales caracteres diferenciadores entre los AE de la población

analizada, caracterizados en el segundo corte de los dendrogramas.

DISCUSIÓN

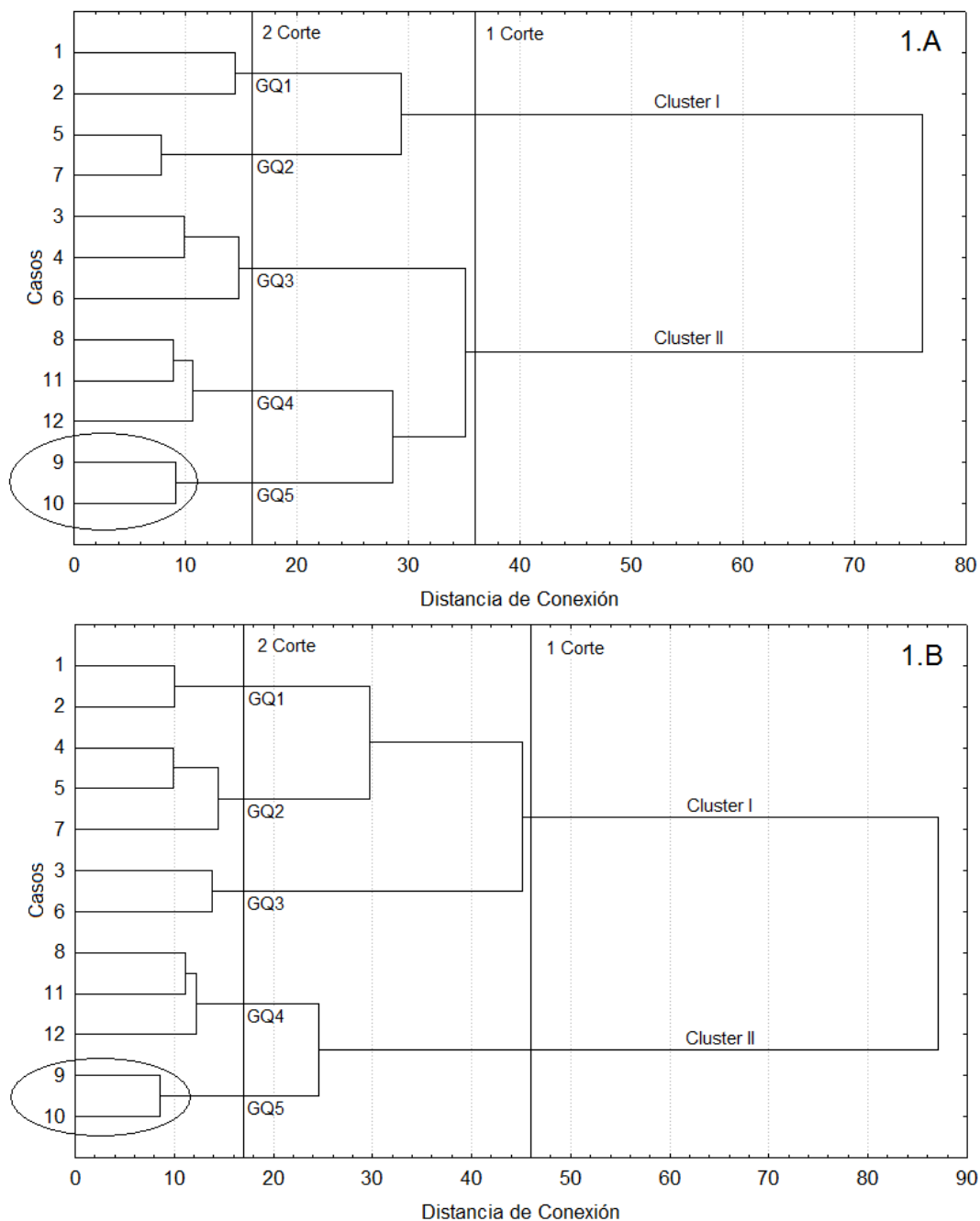
En relación a la clase de terpenoides, el perfil químico de los AE analizados presentó alta proporción de hidrocarburos monoterpénicos (49,1 y 54,5% - HJ y HV respectivamente), a diferencia de otros AE de Lauraceae, para los cuales fue descrita alta proporción de hidrocarburos sesquiterpénicos (Ciccio & Chaverri, 2008; Telascra *et al.*, 2008; Alcântara *et al.*, 2010; Alcântara *et al.*, 2012). No obstante, al considerar el constituyente mayoritario, este fue identificado como el hidrocarburo sesquiterpénico biciclogermacreno, con porcentajes de 24,6 y 22,3% para HJ y HV, respectivamente.

Otras investigaciones realizadas con los AE de las hojas de *N. megapotamica* incluyen un número menor de constituyentes que los informados en este trabajo para HJ y HV. Tondolo *et al.* (2013) detectaron 25 constituyentes en la composición de muestras de HJ y HV, para dos individuos de *N. megapotamica* colectados en el Morro do Elefante en Santa Maria-RS, en la primavera de 2010.

En hojas obtenidas de especímenes en São Paulo, Romoff *et al.* (2010) describieron la presencia de 19 constituyentes en cuatro muestras de AE de las hojas de dos individuos, mientras Brito (2009) observó 59 constituyentes en muestras de AE de las hojas de tres individuos colectados mensualmente, de febrero de 2006 hasta enero de 2007. Marin *et al.* (2010) observaron cómo componentes mayoritarios en AE de las hojas de *N. megapotamica* la presencia de β -cariofileno, *E*-nerolidol, espatulenol, óxido de cariofileno y guaíol. Estos constituyentes también fueron detectados en las muestras analizadas en el presente trabajo, pero en concentraciones menores. Romoff *et al.* (2010) obtuvieron AE de las hojas de esta especie rica en α -bisabolol, con variación de 62,3 a 69,4%, además de 8,2 a 22,6% de δ -elemeno, presentando varios de los constituyentes observados en las muestras analizadas en esta investigación, pero en bajas concentraciones. Brito (2009) observó diferencias cualitativas y cuantitativas entre los AE de las hojas de diferentes individuos de *N. megapotamica*. Los constituyentes mayoritarios detectados fueron α -santaleno, β -santaleno, γ -amorfeno, α -*E*-bergamoteno, alo-himachalol y biciclogermacreno para dos de los individuos analizados, mientras que en un tercer individuo

Figura N° 1

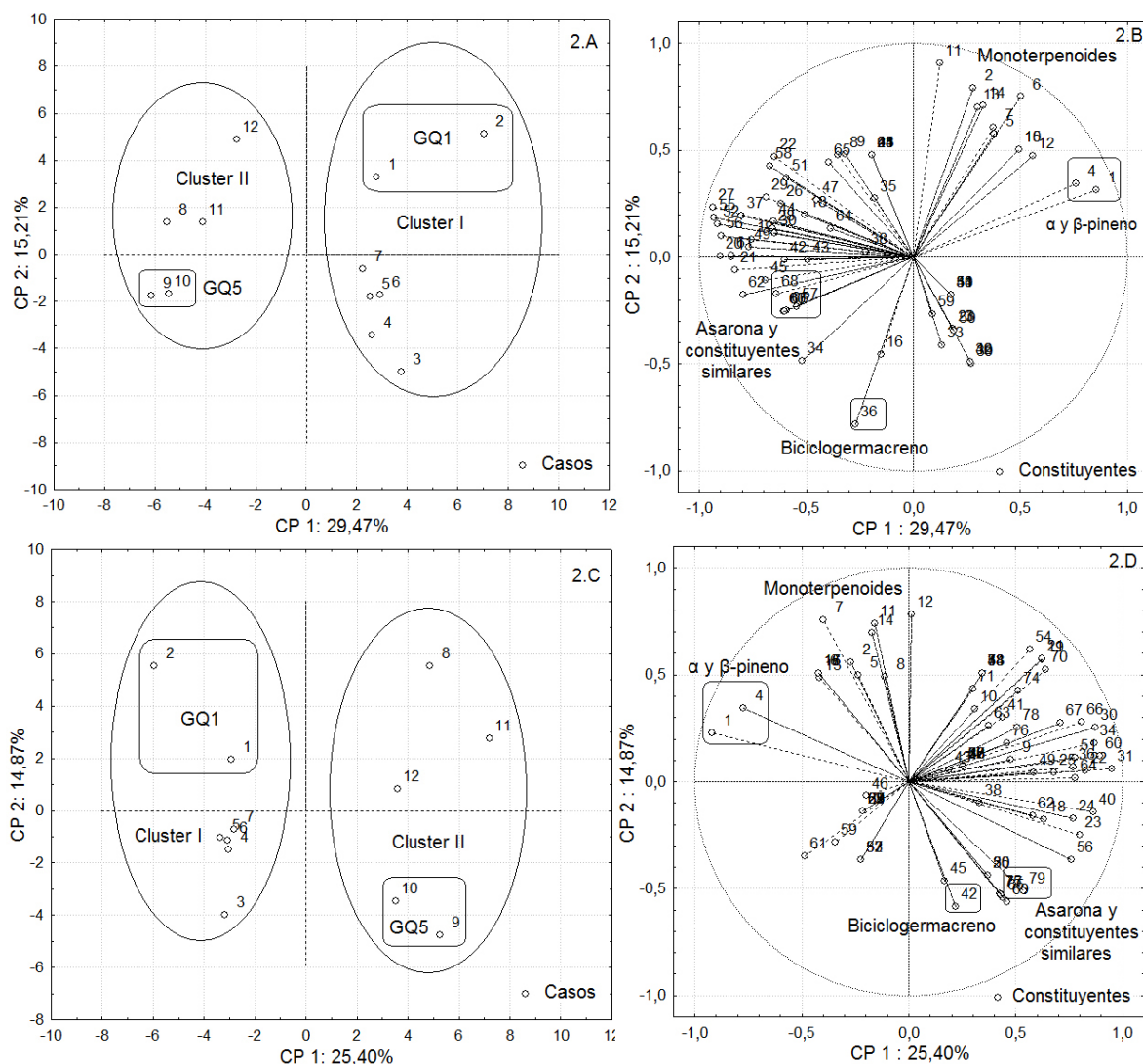
Dendrograma para el agrupamiento de las muestras de los AE de HJ (A) y HV (B) de *Nectandra megapotamica*, recolectadas en Santa Maria-RS. Las elipses destacan el grupo químico 5 (GQ5), formado por los AE de las recolectas 9 y 10.



Leyenda – Recolectas por estaciones del año (Casos): Primavera - 1, 2 y 3; Verano - 4, 5 y 6; Otoño - 7, 8 y 9; Invierno - 10, 11 y 12; GQ: grupo químico.

Figura N° 2

Dispersión de los casos para los AE de HJ (2.A) y HV (2.C), y de las variables para los AE de HJ (2.B) y HV (2.D) de *N. megapotamica* recolectadas en Santa Maria - RS



Leyenda – Recolectaciones por estaciones del año (Casos – 2.A y 2.C): Primavera - 1, 2 y 3; Verano - 4, 5 y 6; Otoño - 7, 8 y 9; Invierno - 10, 11 y 12; GQ: grupo químico; CP: componentes principales; Constituyentes en orden de ocurrencia, conforme la tabla 1: 1 - 67 (2.B) y 1 - 79 (2.D).

predominaron muurola-4,10(14)-dieno-1- β -ol y δ -elemeno. De estos, sólo biciclogermacreno y δ -elemeno fueron observados en las muestras analizadas en esta investigación. Mello *et al.* (2005) obtuvieron distintas composiciones químicas para AE de individuos de la especie colectados en diferentes regiones del estado de São Paulo, uno conteniendo δ -elemeno y seicheleno como componentes

mayoritarios, y en otro predominaron *E*-cariofileno, biciclogermacreno y germacreno D.

Torres *et al.* (2014) observaron mayores contenidos de sesquiterpenoides (58,5% a 68,9 %) en relación a los monoterpenoides (21,0% a 31,7 %) en AE obtenidos de individuos de *N. megapotamica* recolectados en diferentes fases vegetativas, durante el otoño en Corrientes (Argentina). Los autores

describen diferencias en la composición química de estos aceites en relación a lo relatado en la literatura, comportamiento semejante al observado en las recolecciones realizadas en Santa María. Sin embargo, en el otoño, HJ y HV presentaron los menores rendimientos de AE, y el contenido de sequiterpenoides fue superior al de monoterpenoides, con medias de 51,7% y 43,2% respectivamente. La comparación de los resultados de este trabajo con la composición anteriormente relatada para los AE de *N. megapotamica* permite inferir que la composición química observada posee constituyentes inéditos descritos para AE de la especie en estudio, como por ejemplo, las estructuras fenilpropanoides *E*-asarona, *Z*-asarona y derivados de estructura correlacionada.

Además las características genéticas pueden ser consideradas como el factor endógeno determinante para la variabilidad, la composición química debe estar sufriendo influencia de factores exógenos, como los relacionados con los diferentes biomas donde fueron realizadas las colectas (Sabino *et al.*, 2012; Torres *et al.*, 2014) y también a la diversidad climática existente entre ellos. El clima de Santa María-RS “*Cfa*” – subtropical húmedo, es similar al clima de Corrientes, “*Cfa*” sin estación seca (Mapoteca, 2014), local de recolectas de Torres *et al.* (2014), y ambas están en la misma latitud. Poseen mayor diferencia en relación al clima de São Paulo-SP, el cual es clasificado como “*Cwa*” – subtropical caliente y de invierno seco (Rolim *et al.*, 2007), local de colecta de los trabajos de Romoff *et al.* (2010) y Brito (2009). Las diferencias en la composición química también pueden ser derivadas de factores como fenología, altitud, disponibilidad hídrica, temperatura, intensidad de luz, fertilidad del suelo (Lima *et al.*, 2003; Gobbo-Neto & Lopes, 2007; Chalchat & Özcan, 2008), entre otros.

Los resultados de los trabajos anteriormente realizados para *N. megapotamica*, en comparación con los observados en este trabajo, sugieren la existencia de diferentes quimiotipos o ecotipos para la especie, comportamiento también sugerido por Torres *et al.* (2014), al comparar la composición química de AE de especímenes recolectados en Argentina con la descripción existente en la literatura. Sin embargo, análisis estacionales en los mismos individuos deben ser utilizados como base a esta suposición, eliminando así la influencia de factores como ambiente, fisiología o expresión génica

diferencial. El comportamiento del AE de las hojas analizadas en este trabajo sugiere que las HV son más indicadas para un análisis estacional comparativo, ya que estas estuvieron expuestas a las variaciones climáticas que caracterizan las estaciones del año y expresaron estas influencias en la composición química de los respectivos EO, lo que no ocurrió con las HJ.

Las asaronas y los demás fenilpropanoides detectados en los AE fueron los principales factores de diferenciación entre grupos químicos, expresados genéticamente por diferentes individuos en la población de *N. megapotamica* evaluada. Fenilpropanoides y terpenoides son formados por rutas metabólicas distintas en los vegetales (Sangwan *et al.*, 2001; Dixon *et al.*, 2002; Peres, 2004) y, de esta forma, la presencia de *E* y *Z*-asarona, NI10 @; NI15 @ y elemicina en el AE caracteriza esa diferenciación. Así, como ocurre entre los diferentes isómeros de la asarona, la diferencia entre las moléculas no identificadas, posiblemente esté en la configuración del doble enlace de la cadena lateral, que frecuentemente confiere bioactividad diferenciada o en la posición de uno o más substituyentes en el anillo aromático. Sin embargo, la presencia de estos derivados no fue observada en los AE descritos para la especie en otros trabajos publicados hasta el momento. La presencia de fenilpropanoides es conocida en plantas de la familia Lauraceae (Gottlieb, 1972) y en el género *Nectandra* (Garcez *et al.*, 2009; Grecco *et al.*, 2013), siendo que la presencia de derivados de la asarona fueron descritos para el extracto etanólico de cáscaras de *N. megapotamica* (Santos Filho & Gilbert, 1975; Silva Filho *et al.*, 2004). De acuerdo con Dixon y Paiva (1995), los fenilpropanoides son respuestas químicas a estrés bióticos y abióticos, como elevada irradiancia, radiación ultravioleta, ataque de patógenos, heridas, bajas temperaturas, deficiencia de fósforo, hierro y nitrógeno, entre otros.

CONCLUSIONES

Los análisis multivariados mostraron ser herramientas adecuadas para evaluar la variabilidad de los AE de *N. megapotamica*. La composición química de los AE de HJ y HV fueron similares, hubo alternancia entre α -pineno y biciclogermacreno como constituyentes mayoritarios, detectados por el AAJ y el ACP, formando dos agrupamientos diferentes entre individuos. Adicionalmente se

obtiveram cinco GQs em função de la composición, indicando presencia de quimiotipos o ecotipos. Se obtuvieron 10 CP, de estos cinco representan aproximadamente el 76,0% de la variabilidad de los datos. Los grupos similares (GQ4 y GQ5) se caracterizaron por el predominio de biciclogermaceno y la presencia de fenilpropanoides, entre ellos los isómeros de la asarona, hasta el momento no descritos para AE de esta especie, mientras que los grupos diferentes fueron GQ1, con predominio de α -pineno y GQ5.

AGRADECIMIENTOS

A la CAPES, FINEP/PROIM, CNPq y FAPERGS/PRONEX por el apoyo financiero.

REFERENCIAS

- Adams RP. 2001. **Identification of essential oil components by gas chromatography quadrupole mass spectrometry**, pp.63-372. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, Illinois, USA.
- Alcântara JM, Yamaguchi KKL, Silva JRA, Veiga-Junior VF. 2012. Composição química de óleos essenciais de *Dicypellium manausense*, *Mezilaurus duckei*, *Mezilaurus itauba* e *Pleurothyrium vasquezii*, quatro espécies amazônicas da família Lauraceae. **Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat** 12: 469 - 475.
- Alcântara JM, Yamaguchi KKL, Silva JRA, Veiga-Junior VF. 2010. Composição química e atividade biológica dos óleos essenciais das folhas e caules de *Rhodostemonodaphne parvifolia* Madriñán (Lauraceae). **Acta Amaz** 40: 567 - 572.
- Alves EO, Mota JH, Soares TS, Vieira MC, Silva CB. 2008. Levantamento etnobotânico e caracterização de plantas medicinais em fragmentos florestais de Dourados-MS. **Ciênc Agrotec** 32: 651 - 658.
- Apel MA, Lima MEL, Souza A, Cordeiro I, Young MCM, Sobral MEG. 2006. Screening of the biological activity from essential oils of native species from Atlantic rain forest (São Paulo - Brazil). **Pharmacologyonline** 3: 376 - 383.
- Baitello JB, Hernández FGL, Moraes PLR, Esteves R, MarcovinoJR. 2003. **Lauraceae**. In: Wanderlei MGL, Shepherd GJ, Giulietti AM, Melhem TS. Flora fanerogâmica do Estado de São Paulo. Ed. Rima, São Paulo, Brasil.
- Baralle F, Busch A, Vernengo MJ, Kuch AM. 1972. Isolation of ocotene from *Nectandra saligna* and *Phoebe porfiria*. **Lloydia** 35: 300 - 302.
- Barra, A. 2009. Factors affecting chemical variability of essential oils: A review of recent developments. **Nat Prod Commun** 4: 1147 - 1154.
- Brito AFR. 2009. **Análise da variação sazonal e das atividades antifúngica e antimicrobiana em óleos essenciais de Ocotea porosa (Nees) Barroso e Nectandra megapotamica (Spreng.) Mez**. Dissertação de Mestrado em Química Orgânica, Instituto de Química da Universidade de São Paulo, Brasil.
- Carvalho PER. 2006. **Espécies florestais brasileiras**. Coleção Espécies Arbóreas Brasileiras, pp.151-156. Ed. 1, v. 2, EMBRAPA Informações Tecnológicas/EMBRAPA Florestas, Brasília, Brasil.
- Ceolin GB, Rosito JM, do Canto-Dorow TS. 2009. Leaf surface characters applied to Lauraceae taxonomy in a seasonal forest of Southern Brazil. **Braz Arch BiolTechnol** 152: 1453 - 1460.
- Chalchat JC, Özcan MM. 2008. Comparative essential oil composition of flowers, leaves and stem of basil (*Ocimum basilicum* L.) used as herb. **Food Chemistry** 110: 501 - 503.
- Ciccio JF, Chaverri C. 2008. Volatile constituents of the oils from *Povedadaphne quadripurata* (Lauraceae) from "Alberto M. Brenes" biological preserve, Costa Rica. **Quim Nova** 31: 605 - 609.
- da Silva Filho AA, Costa ES, Cunha WR, Silva MLA, Nanayakkara NPD, Bastos JK. 2008. *In vitro* antileishmanial and antimalarial activities of tetrahydrofuran lignans isolated from *Nectandra megapotamica* (Lauraceae). **Phytother Res** 22: 1307 - 1310.
- de Luca AN, Nunomura SM, Yoshida M. Phytochemical analyses of Lauraceae species. 2004. **Rev Cubana Plant Med** 10: 30.
- Dixon RA, Achnine L, Kota P, Liu CJ, Srinivasa Reddy MS, Wang L. 2002. The phenylpropanoid pathway and plant defence

- a genomics perspective. **Mol Plant Pathol** 3: 371 - 390.
- Dixon RA, Paiva N. 1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. **Plant Cell** 7: 1085 - 1097.
- EMBRAPA. 2011. **Atlas climático da região sul do Brasil**. Embrapa Clima Temperado/Embrapa Florestas, Pelotas/Colombo, Brasil.
- Farias JAC, Teixeira IF, Pés L, Alvarez Filho A. 1994. Estrutura fitossociológica de uma Floresta Estacional Decidua na região de Santa Maria, RS. **Ciência Florestal** 4: 109 - 128.
- Ferreira DF. 2008. **Estatística multivariada**, Ed. 1, Editora UFPA, Lavras, Brasil.
- Garcez FR, Garcez WS, Hamerski L, Miguita CH. 2009. Fenilpropanóides e outros constituintes bioativos de *Nectandra megapotamica*. **Quim Nova** 32: 407 - 411.
- Gobbo-Neto L, Lopes NP. 2007. Planta medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Quim Nova** 30: 374 - 381.
- Gottlieb OR. 1972. Plant Chemosystematics and phylogeny. III. Chemosystematics of the Lauraceae. **Phytochemistry** 11: 1537 - 1570.
- Grecco SS, Martins EGA, Sartorelli P, Lago JHG. 2013. **Fenilpropanóides isolados do extrato apolar de *Nectandra leucantha* Ness & Mart. (Lauraceae)**. Comunicación de la XXXVI Reunión Anual da Sociedade Brasileira de Química 2013, SBQ, Águas de Lindóia, SP, Brasil.
- Grela I, Brussa C. 2003. Relevamiento florístico y análisis comparativo de comunidades arbóreas de Sierra de Ríos (Cerro Largo – Uruguay). **Agrociencia** 2: 11 - 26.
- IBGE. 2012. **Manual técnico da vegetação brasileira**, Ed. 2, IBGE, Rio de Janeiro, Brasil.
- Krügel MM, Burger MI, Alves MA. 2006. Frugivoria por aves em *Nectandra megapotamica* (Lauraceae) em uma área de Floresta Estacional Decidua no Rio Grande do Sul, Brasil. **Iheringia** 96: 17 - 24.
- Lattin JM, Carroll JD, Green PE. 2011. **Análise multivariada de dados**, Ed 1, Avritscher H (translator), Cenage Learning, São Paulo, Brasil.
- Lima HRP, Kaplan MAC, Cruz AVM. 2003. Influence of abiotic factors on terpenoids production and variability in the plant. **Floresta e Ambiente** 10: 71 - 77.
- Longhi RA. 1995. **Livro das árvores: árvores e arvoretas do sul**, Ed 1, L&PM, Porto Alegre, Brasil.
- Lorenzi H. 2002. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Ed. 4(1), Instituto Plantarum de Estudos da Flora, Nova Odessa, Brasil.
- Machado PFS, Longhi SJ. 1993. Aspectos florísticos e fitossociológicos do “Morro do Elefante”, Santa Maria, RS. **Rev do Centro de Ciências Rurais** 19: 261 - 280.
- Mapoteca, Ministerio de Educación Presidencia de la Nación. 2014. **Corrientes: Mapa Climático**. <http://mapoteca.educ.ar/mapa/corrientes/?tema=climatico> [Consulted April 17, 2014].
- Mardia KV, Kent JT, Bibby JM. 1994. **Multivariate analysis**, Ed 9, Academic Press, London, UK.
- Marin R, Silva GT, Fontoura JB, Giordani RB, Henriques AT, Apel MA. 2010. **Composição química do óleo essencial obtido de *Nectandra megapotamica* (Spreng) Chodat et Hassler do Sul do Brasil**. Comunicación de la XXXIII Reunión Anual da Sociedade Brasileira de Química 2010, Águas de Lindóia, SP, Brasil.
- Marques CA. 2001. Importância econômica da Família Lauraceae Lindl. **Floresta e Ambiente** 8: 195 - 206.
- Mello NTK, Dias IEC, Yoshida M. 2005. Chemical constituents of *Nectandra saligna* Nees (Lauraceae). **Rev Cub Plant Med** 10: 319.
- NIST, 2002. National Institute of Standards and Technology. **NIST/EPA/NIH mass spectral library & search/analysis programs NIST.02 update**. John Wiley & Sons, Hoboken, USA.
- Pedralli GA. 1986. Família Lauraceae Lindley no Rio Grande do Sul, Brasil: gênero *Nectandra* Rol. Ex Rottb. **Iheringia** 35: 133 - 149.
- Peres LEP. 2004. **Metabolismo secundário**, pp. 1-10. Ed.1, ESALQ/USP, Piracicaba, Brasil.
- Rolim GS, Camargo MBP, Lania DG, Moraes JFL. 2007. Classificação climática de Köppen e de

- Thornthwaite e sua aplicabilidade na diferenciação de zonas agroclimáticas para o Estado de São Paulo. **Bragantia** 66: 711 - 720.
- Romoff P, Ferreira MJP, Padilha R, Toyama DO, Fávero OA, Lago JHG. 2010. Chemical composition of volatile oils from leaves of *Nectandra megapotamica* Spreng. (Lauraceae). **Quím Nova** 33: 1119 - 1121.
- Rohwer JG, Kubitzki K. 1993. Ecogeographical differentiation in *Nectandra* (Lauraceae), and its historical implications. **Botanica Acta** 106: 88 - 99.
- Sabino JFP, Reyes MM, Barrera CDF, Silva AJR. 2012. Análise e discriminação de quimiotipos de *Lippia graveolens* H.B.K. da Guatemala por microextração em fase sólida, CG-MS e análise multivariada. **Quím Nova** 35: 97 - 101.
- Sangwan NS, Farooqi AHA, Shabih F, Sangwan RS. 2001. Regulation of essential oil production in plants. **Plant Growth Regulation** 34: 3 - 21.
- Santos Filho D, Gilbert B. 1975. The alkaloids of *Nectandra megapotamica*. **Phytochemistry** 14: 821 - 822.
- Sartor RB. 2009. **Modelagem, simulação e otimização de unidade industrial de extração de óleos essenciais por arraste a vapor**. Dissertação em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil.
- Silva DT. 2013. **Óleos essenciais de *Nectandra grandiflora* e *Ocotea acutifolia*: rendimento, composição química e atividades biológicas**. Dissertação de Mestrado em Engenharia Florestal, Universidade Federal de Santa Maria, Brasil.
- Silva Filho AA, Silva MLAE, Eberlin MN, Tomazela DM, Bastos JK. 2004. Tetrahydrofuran lignans from *Nectandra megapotamica* with trypanocidal activity. **J Nat Prod** 67: 42 - 45.
- Streck EV, Kämpf N, Dalmolin RSD, Klamt E, Nascimento PC, Schneider P, Giasson E, Pinto LFS. 2008. **Solos do Rio Grande do Sul**, Ed, EMATER/RS; UFRGS, Porto Alegre, Brasil.
- Subki SYM, Jamal JA, Husain KA, Manshoor IN. 2013. Characterisation of leaf essential oils three *Cinnamomum* species from Malaysia by gas chromatography and multivariate data analysis. **Pharmacognosy J** 5: 22 - 29.
- Telascrea M, Araújo CC, Cavalheiro AJ, Marques MOM, Facanali R, Moraes PLR. 2008. Essential oil from leaves of *Cryptocarya spp* from the Atlantic Rain Forest. **Quím Nova** 31: 503 - 507.
- Telascrea M, Araújo CC, Marques MOM, Facanali R, Moraes PLR, Cavalheiro AJ. 2007. Essential oil from leaves of *Cryptocarya mandioccana* Meisner (Lauraceae): Composition and intraspecific chemical variability. **Biochem System Ecol** 35: 222 - 232.
- Tondolo JSM, Amaral LP, Simões LN, Garlet QI, Schindler B, Oliveira TM, Silva BF, Gomes LC, Baldisserotto B, Mallmann, Heinzmann BM. 2013. Anesthesia and transport of fat snook *Centropomus parallelus* with the essential oil of *Nectandra megapotamica* (Spreng.) Mez. **Neotropical Ichthyology** 11: 667 - 674.
- Torres AM, Camargo FJ, Ricciardi GA, Ricciardi AIA, Dellacassa E. 2014. *Nectandra megapotamica* (Spreng.) Mez.: phytochemical characterization and neutralizing effect on *Bothrops diporus* venom. **J Essential Oil Res** DOI 10.1080/10412905.2014.882277 (online): 1-7.
- Zanon MMF, Goldenberg R, Moraes PLR. 2009. O gênero *Nectandra* Rol. Ex Rottb. (Lauraceae) no Estado do Paraná, Brasil. **Acta Bot Bras** 23: 22 - 35.